



Farías, Jesuán¹; Thomas, Andrés¹; Lhiaubet-Vallet, Virginie²; Dántola, María Laura¹

¹: Instituto de Investigaciones Físicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA), (CONICET-UNLP), La Plata, Argentina;

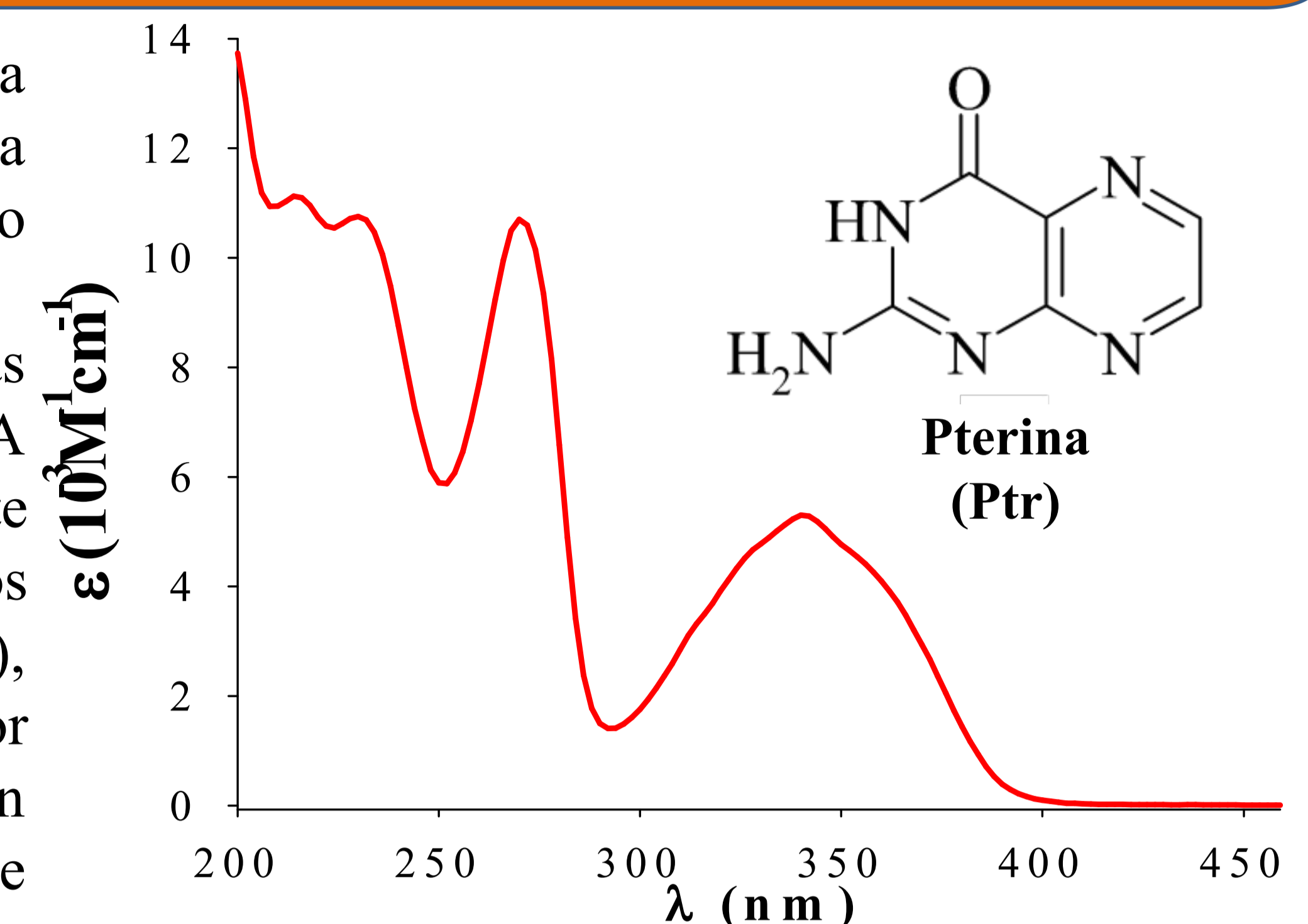
²: Instituto de Tecnología Química, Universitat Politècnica de València, Valencia, España.

Email: jesuan.jf@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La fotoalergia es un trastorno de fotosensibilidad asociado a una reacción de la piel al efecto combinado de una droga y la luz solar. Es el resultado de la conversión fotoquímica de un xenobiótico a un antígeno. Se atribuye a la formación de una proteína modificada que se forma por unión covalente a una droga que actúa como antígeno desencadenando una respuesta inmune.¹

Las pterinas son compuestos heterocíclicos que participan en numerosas funciones biológicas. En determinadas situaciones patológicas, como el vitiligo, se acumulan en las manchas depigmentadas de la piel. Bajo excitación UV-A (320-400 nm), son capaces de generar daño fotoinducido en ADN², proteínas³ y sus componentes, mediante mecanismos tipo I (transferencia electrónica) o mecanismos tipo II (Oxígeno singlete). Recientemente hemos demostrado que la pterina (Ptr), derivado no sustituido, bajo radiación UV-A se une covalentemente a Ubiquitina (Ub), generando un fotoaducto que conserva las propiedades espectroscópicas del fotosensibilizador.⁴ El Análisis por espectrometría de masa sugiere que la Ptr se une a los residuos de lisina (K) e histidina (H) de Ub. Motivados en profundizar en el conocimiento de la capacidad de las pterina de formar aductos con proteínas, el objetivo principal de este trabajo es estudiar si Ptr es capaz de formar fotoaductos en sistemas más sencillos, tales como péptidos y aminoácidos libres, como así también, identificar su sitio de unión.

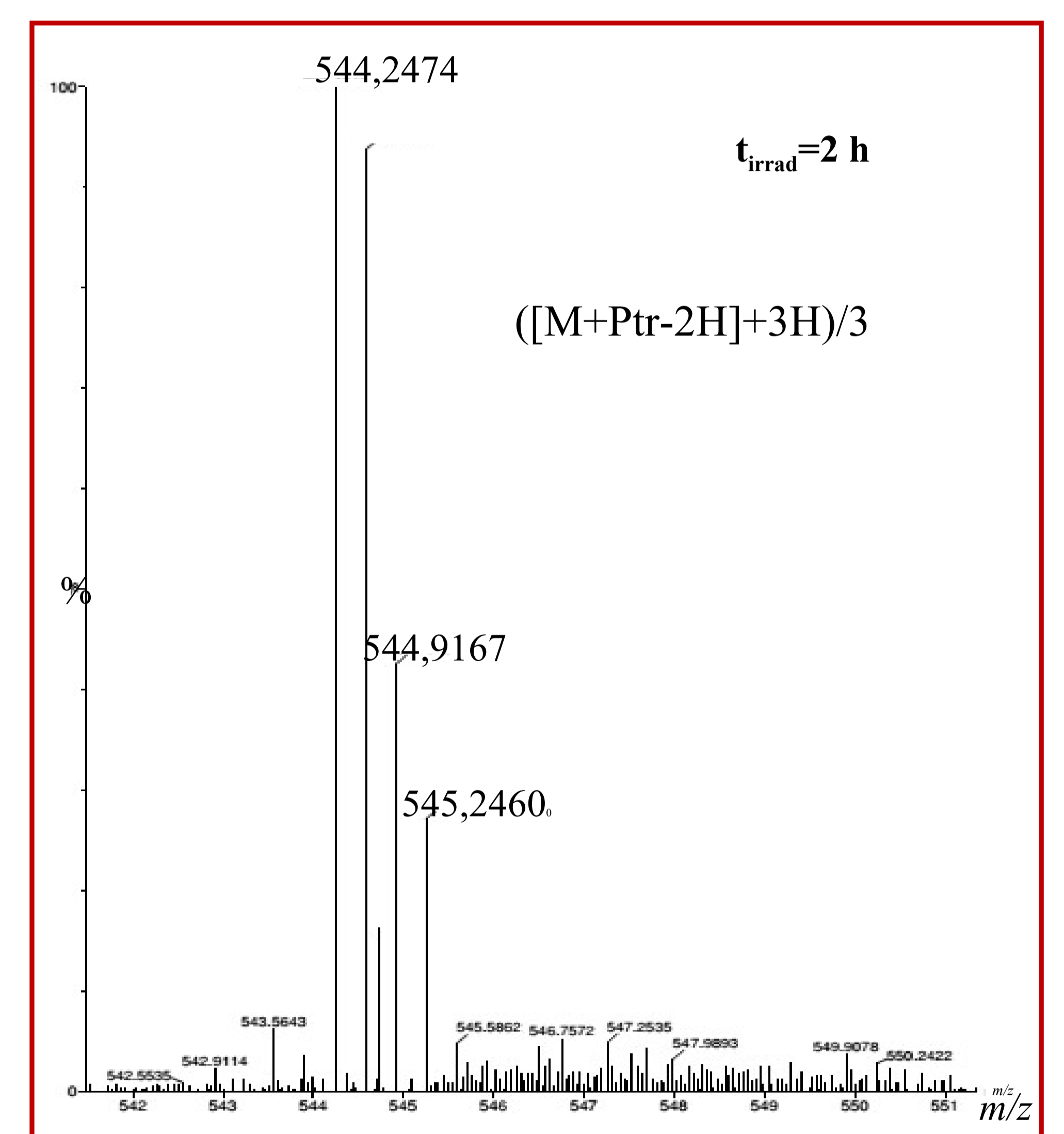
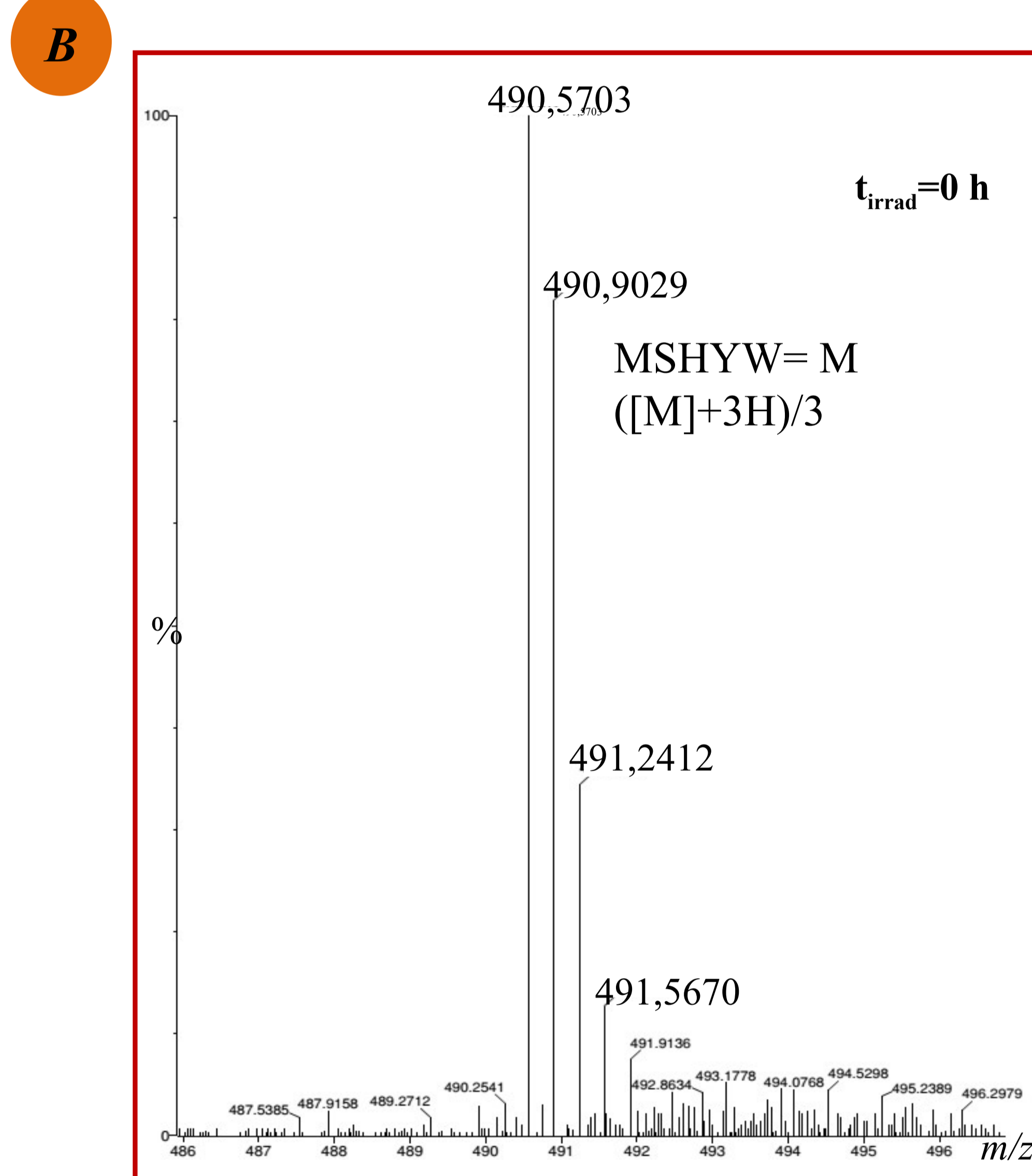
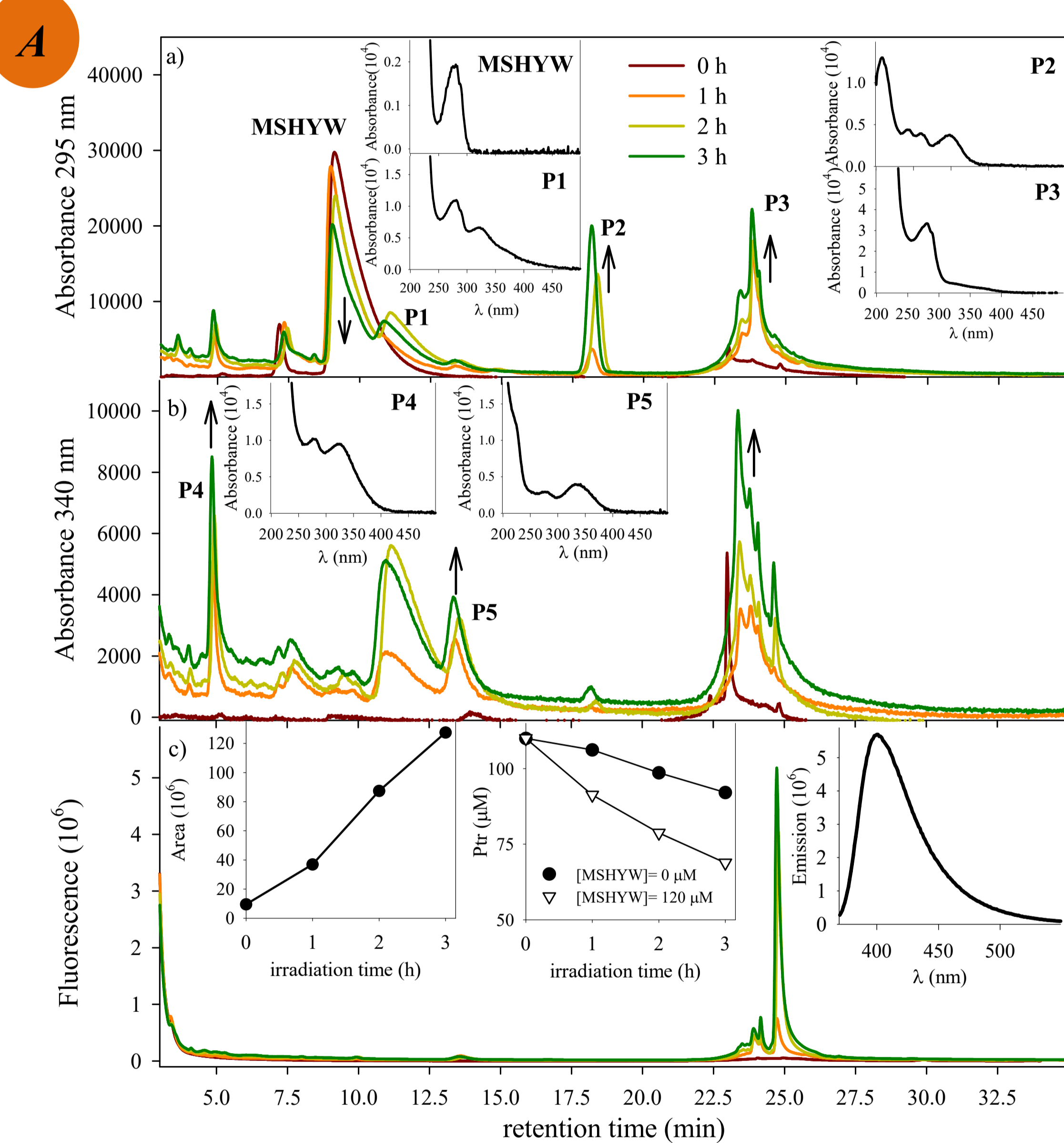


Estructura molecular y espectro de absorción de Ptr en solución ácida

RESULTADOS

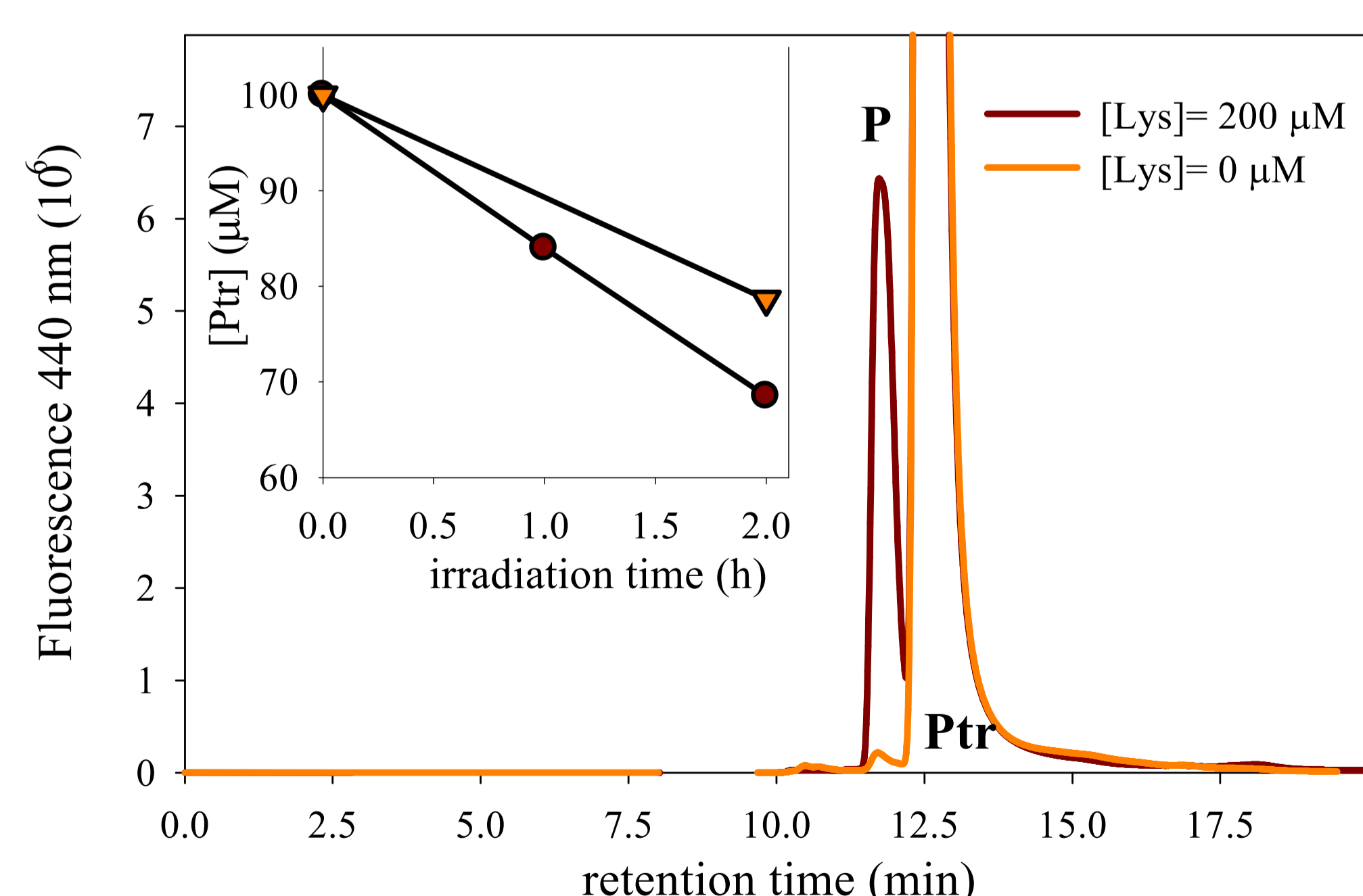
Daño fotoinducido a MSHYW por Ptr

MSHYW: Ac-Ser¹-Tyr²-Ser³-Gly⁴-Glu⁵-Gly⁶-Phe⁷-Arg⁸-Trp⁹-Gly¹⁰-Lys¹¹-Pro¹²-Val¹³-NH₂

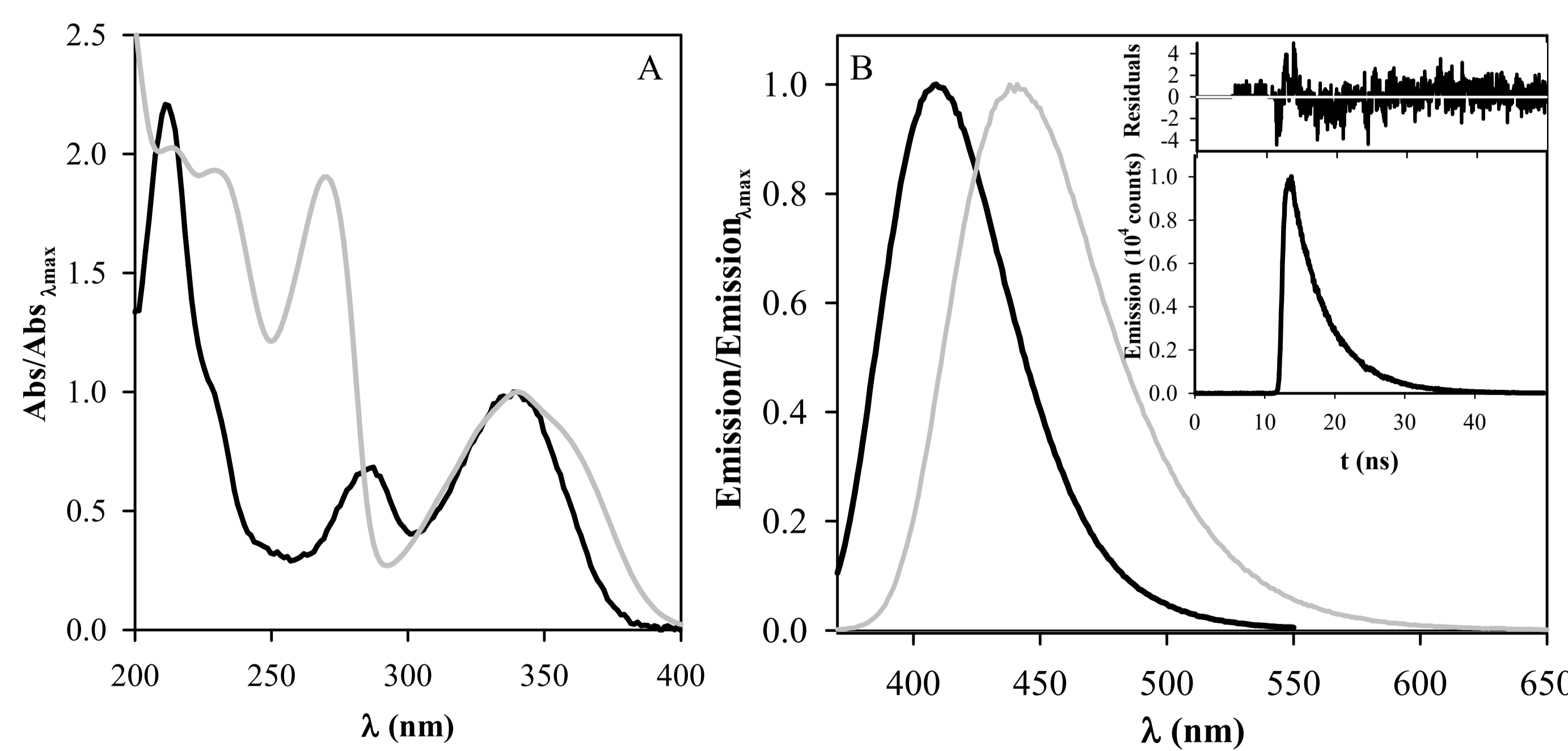


A) Análisis por HPLC de una solución anaeróbica de MSH-YW (120 μM) y Ptr (110 μM), antes y después de irradiar 1, 2 y 3 h. Cromatogramas registrados con el detector: a) PDA a 295 nm, b) PDA a 340 nm. Inset: espectros de productos. c) fluorescencia (λ_{exc} =340 nm, λ_{em} =440 nm). Inset: evolución del área del pico correspondiente a P3 y de la concentración de Ptr. Espectro de emisión de P3.
B) Espectros de masas de soluciones de MSH-YW (120 μM) y Ptr (110 μM), antes y después de irradiar 2 h en condiciones anaeróbicas

Daño fotoinducido a Lisina por Ptr



Cromatograma registrado con el detector de fluorescencia (λ_{exc} =340 nm, λ_{em} =440 nm), de una solución de Ptr (110 μM) irradiada en condiciones anaeróbicas en ausencia y presencia de Lys (110 μM).



A) Espectro de absorción del producto P aislado (línea negra) y Ptr (línea gris) B) Espectro de emisión normalizado, obtenido por excitación a 350 nm, del producto P (línea negra) y Ptr (línea gris). Inset: Decaimiento de la emisión a 440 nm de una solución de P (λ_{exc} =341 nm)

CONCLUSIONES

- Al irradiar MSHYW en presencia de Ptr en anaerobiosis, se observa la formación de un producto con propiedades espectrales compatibles a Ptr. Por HPLC-MS se observa la formación de un producto cuyo peso molecular se corresponde a un aducto generado por unión covalente de Ptr y MSHYW.
- Al irradiar Lys en presencia de Ptr en anaerobiosis, se observa un producto con propiedades espectrales similares a Ptr.

METODOLOGÍA

Irradiación en estado estacionario

Lámpara Rayonet RPR (350±20) nm Solvente: H₂O (pH=5,0), atmósfera: argón

Análisis de las soluciones irradiadas

*Espectrofotometría UV-Vis: Shimadzu UV-1800

*HPLC: Prominence Shimadzu LC-20

*HPLC-MS

*Espectroscopía de fluorescencia: Fluorolog 3 (Horiba Jovin-Ivon)

AGRADECIMIENTOS

J.J.F. agradece a CONICET por las Beca doctoral.

M.L.D. y A. H.T. son investigadores miembros del CONICET.

Subsidios:

ANPCyT-PICT 2017-0925, PICTE-2018-0038

PUE- 22920170100100CO, UNLP-Subsidio 11/X840

Programa CSIC de Cooperación Científica para el Desarrollo (iCOOPLight project ref 20105CD0017) y gobierno Español (PGC2018-096684-B-I00)

REFERENCIAS

- 1 S. Montaro, et. al., Chem. Med. Chem, 4, 1196 (2009)
- 2 G. Petroselli, et al., J. Am. Chem. Soc., 130, 3001 (2008)
- 3 L.O. Reid, et.al, Biochemistry, 55(34), 4777 (2016)
- 4 L. O. Reid, et. al, Chem. Res. Toxicol., 32, 2250 (2019)